

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Terezie Imrichová

Úloha endogenního steroidu dehydroepiandrosteronu (DHEA) v modulaci lokálního metabolismu glukokortikoidů

Endogenous steroid dehydroepiandrosterone and its role in modulation of local metabolism of glucocorticoids

Bakalářská práce

Tržní kolitel: prof. RNDr. Jiří Pácha, DrSc.

Praha, 2011

Srdce n ěd kuji sv ěmu ěkoliteli prof. RNDr. Ji ěmu P ěchovi, DrSc. za konzultace a cenn ě rady p ě i psan ě bakal ěr sk ě pr ěce. Z ěrove bych cht ěla pod ěkovat v ěem ělen ěm laborato ěe.

Prohla ěuji, ěe jsem z ěv ěre nou pr ěci zpracovala samostatn ě a ěe jsem uvedla v ěechny pou ěit ě informa ěn ě zdroje a literaturu. Tato pr ěce ani jej ě podstatn ě ěst nebyla p ědlo ěena k z ěsk ěn ě jin ěho nebo stejn ěho akademick ěho titulu.

V Praze, 5.5.2011

Terezie Imrichov ě

Obsah

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Abstrakt..... | 5 |
| 2 | Klíčová slova..... | 5 |
| 3 | Úvod..... | 6 |
| 4 | Steroidní hormony | 6 |
| 4.1 | Obecně o steroidních hormonech..... | 6 |
| 4.1.1 | Místa syntézy a typy steroidních hormonů | 6 |
| 4.1.2 | Mechanismus účinku steroidů | 7 |
| 4.2 | Glukokortikoidy | 8 |
| 4.2.1 | Místa syntézy | 8 |
| 4.2.2 | Účinky | 8 |
| 4.2.3 | Mechanismy regulace | 9 |
| 4.2.4 | Glukokortikoidní a mineralokortikoidní receptory | 10 |
| 4.3 | Dehydroepiandrosteron (DHEA)..... | 11 |
| 4.3.1 | Biosyntéza DHEA | 11 |
| 4.3.2 | DHEA jako prekurzor steroidních hormonů | 11 |
| 4.3.3 | Změny v koncentraci sérového DHEA během ontogeneze | 11 |
| 4.3.4 | DHEA jako neuroaktivní neurosteroid | 13 |
| 4.3.5 | Další účinky DHEA..... | 14 |
| 4.3.6 | Inhibice účinků glukokortikoidů pomocí DHEA..... | 14 |
| 4.4 | DHEA metabolity a jejich syntéza..... | 15 |
| 4.4.1 | Intermediáty na cestě k pohlavním hormonům..... | 15 |
| 4.4.2 | 7-OH a 7-oxo- deriváty..... | 15 |
| 5 | Antiglukokortikoidní potenciál DHEA a jeho metabolit | 18 |
| 5.1 | Negativní účinky glukokortikoidů | 18 |
| 5.2 | Možné mechanismy antiglukokortikoidního působení DHEA a jeho metabolitů | 18 |
| 5.3 | DHEA jako antiglukokortikoid..... | 19 |
| 5.3.1 | DHEA a mechanismus (1) | 19 |
| 5.3.2 | DHEA a mechanismus (4) | 19 |
| 5.4 | 7-OH-DHEA jako antiglukokortikoid..... | 21 |
| 5.4.1 | 7-OH-DHEA a mechanismus (1) | 21 |
| 5.4.2 | 7-OH-DHEA a mechanismus (2) | 21 |
| 5.4.3 | 7-OH-DHEA a mechanismus (3) | 22 |
| 5.5 | 7-OH-DHEA jako antiglukokortikoid..... | 22 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5.5.1 | 7 -OH-DHEA a mechanismus (3) | 22 |
| 5.6 | 7-oxo-DHEA jako antiglukokortikoid | 23 |
| 6 | Antiglukokortikoidní vlastnosti DHEA a jeho metabolit v klinické praxi | 23 |
| 6.1 | Fyziologické účinky DHEA a jeho metabolit | 23 |
| 6.1.1 | Účinky DHEA za normálního a patologického stavu | 23 |
| 6.1.2 | Fyziologické účinky 7-oxidovaných DHEA metabolit | 24 |
| 6.1.3 | 7-oxidované DHEA metabolity za patologického stavu | 25 |
| 6.2 | Možné terapeutické využití DHEA | 25 |
| 6.3 | Rizika a nejasnosti | 26 |
| 6.3.1 | Komplikace při výzkumu | 26 |
| 6.3.2 | Vedlejší účinky | 27 |
| 6.4 | Jakým směrem se dále ubírat? | 27 |
| 7 | Závěr | 28 |
| 8 | Seznam použité literatury | 29 |

1 Abstrakt

Antiglukokortikoidní vlastnosti dehydroepiandrosteronu (DHEA) jsou známy již několik let, dosud však nebyla objasněna jejich molekulární podstata. Výsledky některých pokusů napovídají, že DHEA není antiglukokortikoidem sám o sobě, nýbrž působí v organismu prostřednictvím svých 7-oxidovaných metabolitů 7 α -OH-DHEA, 7 β -OH-DHEA a 7-oxo-DHEA. V posledních letech byly testovány nejrozšířenější hypotézy o tom, jakými mechanismy zmíněné steroidy brání glukokortikoidům vykonávat svou funkci. Některé z nich byly spolehlivě vyvráceny (např. kompetitivní inhibice vazby na glukokortikoidní receptor), jiné potvrzeny (např. DHEA-zprostředkováná změna v expresi některých enzymů glukokortikoidního metabolismu), o dalších se stále uvažuje. Nicméně vysvětlení podstaty antiglukokortikoidního efektu DHEA a jeho metabolitů je zcela klíčové pro jejich možné využití pro terapeutické účely.

The anti-glucocorticoid effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) have been known for many years. However, its molecular basis have not been elucidated yet. The results of certain experiments suggest that not DHEA but its 7-oxygenated metabolites 7 α -OH-DHEA, 7 β -OH-DHEA and 7-oxo-DHEA are the antiglucocorticoid molecules. Various hypothesis about how these steroids exert their antiglucocorticoid action have been tested during the last several years. Some of them were reliably disproved (e.g. the competitive inhibition of glucocorticoid receptors), others were validated (e.g. the DHEA-mediated change in expression of certain enzymes participating in glucocorticoid metabolism), and yet others are still being considered. Nevertheless, clarifying the nature of the anti-glucocorticoid effect of DHEA or its metabolites is crucial for its possible use as a therapeutic drug.

2 Klíčová slova

Dehydroepiandrosteron, 7 α -OH-DHEA, 7 β -OH-DHEA, 7-oxo-DHEA, glukokortikoidy, antiglukokortikoidy, 11 β -hydroxysteroiddehydrogenáza typu 1

Dehydroepiandrosterone, 7 α -OH-DHEA, 7 β -OH-DHEA, 7-oxo-DHEA, glucocorticoids, antiglucocorticoids, 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase type 1

3 Úvod

Glukokortikoidy jsou stresové hormony, které umožňují organismu reagovat na vnitřní i vnější stresové podněty, zároveň však mají mnoho účinků, které jsou pro organismus nepříznivé. Mimo jiné jsou spojovány se vznikem některých chorob, například inzulinové rezistence, centrální obezity i atrofie mozku. Před několika lety bylo zjištěno, že aplikace exogenního DHEA tlumí účinky glukokortikoidů *in vivo*, pokusy *in vitro* však byly vesměs neúspěšné. Jako jedno z možných vysvětlení se nabízel, že DHEA nepůsobí v organismu přímo, nýbrž prostřednictvím svých metabolitů, jejichž syntéza je možná pouze v podmínkách *in vivo*, tj. za přítomnosti potřebných enzymů. Tato hypotéza je opodstatněná, neboť bylo prokázáno, že 7-oxidované metabolity DHEA opravdu vykazují antiglukokortikoidní účinky, které jsou v některých případech dokonce silnější, než účinky samotného DHEA. Stále však zbývá vysvětlit, na jakých úrovních a jakými mechanismy je působení glukokortikoidů i mito steroidy regulováno.

Vzhledem k tomu, že jejich koncentrace v krevním séru je v porovnání s glukokortikoidy poměrně nízká, byla vyloučena interakce na systémové úrovni a pozornost se zaměřuje spíše na autokrinní i parakrinní působení. Při regulaci koncentrace aktivních glukokortikoidů v konkrétních buňkách je klíčovým enzymem 11 β -hydroxysteroiddehydrogenáza, což je enzym schopný převádět glukokortikoidy z aktivní formy do inaktivní a naopak. Je možné, že DHEA (i spíše jeho metabolity) soutěží s glukokortikoidy o aktivní místo na tomto enzymu a tím brání jejich aktivaci/inaktivaci. Kromě toho se uvažuje o DHEA-zprostředkované změně transkripce genů pro různé formy tohoto enzymu. Tyto i další hypotézy byly však dosud testovány pouze *in vitro* nebo na zvířecích modelech a je nutné ověřit jejich platnost u lidí.

Ve své práci bych chtěla stručně shrnout dosud známé poznatky o interakci glukokortikoidů a DHEA, resp. jeho metabolitů a nastínit, jakým směrem se dnes výzkum v této oblasti ubírá.

4 Steroidní hormony

4.1 Obecné o steroidních hormonech

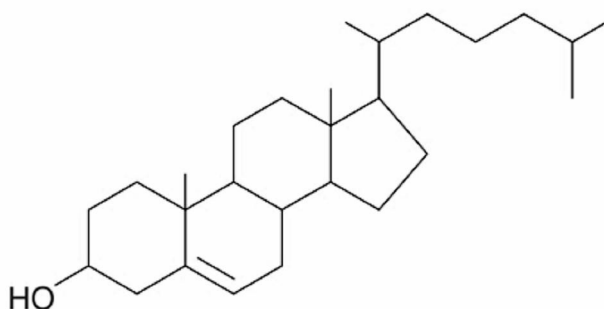
4.1.1 Místa syntézy a typy steroidních hormonů

Do skupiny steroidních hormonů řadíme všechny hormony, které jsou odvozeny od chemické sloučeniny cholesterolu. Cholesterol je tvořen čtyřmi esteriuhlíkatými kruhy (A, B, C) a jedním pětihlíkatým (D), kde navíc je v pozici 17 připojen osmiuhlíkatý postranní řetězec (C20).

ó C27). V pozicích 18 a 19 se nacházejí dvě metylové skupiny (obr.1). Pokud odstraníme část postranního řetězce, získáme skupinu tzv. C21 steroid (progestiny, kortikosteroidy); odstraněním celého postranního řetězce dostaneme C19 steroidy (androgeny); a ztráta metylové skupiny v pozici 19 a následná aromatizace A kruhu vede ke vzniku C18 steroid (estrogeny). (Chester-Jones et al. 1987)

V těle savců jsou steroidy tvořeny buď kůrkou nadledvin (kortizol, kortikosteron a aldosteron), vaječníkem (estrogen a progesteron), varlaty (testosteron), mozkem (neurosteroidy) a placentou (estrogen a progesteron). Věřícím slova smyslu můžeme za místa syntézy steroidních hormonů považovat také periferní tkáň, kde dochází k enzymatické přeměně inaktivních forem na které hormony aktivní.

Kromě výše jmenovaných řadíme mezi steroidní hormony také sekosteroidy, pro něž je charakteristické rozštěpení B kruhu. Mezi nimi je nejvýznamnější skupina látek známá jako vitamin D (Guyton & Hall 2006).



Obr. 1: Cholesterol

4.1.2 Mechanismus účinku steroid

Mechanismus účinku steroidních hormonů je dvojitý.

Převládá genomový, tj. vazba na nitrobuňkový receptor, který je zároveň transkripčním faktorem. Rozlišíme dva typy těchto receptorů. První typ je lokalizován v cytoplasmě a pokud se na něj nenaváže ligand, je obklopen komplexem chaperonových proteinů (heat-shock proteiny aj.). Po navázání hormonu dojde k oddisociaci proteinového komplexu, homodimerizaci receptoru, odhalení jaderné signální sekvence a transportu do jádra. Tam se receptor váže na příslušné responsivní elementy na DNA, iniciuje remodelaci chromatinu a umožní vazbu dalších proteinů nutných pro zahájení transkripce daných genů. Tímto způsobem funguje například receptor pro glukokortikoidy. Druhý typ nitrobuňkových receptorů

je lokalizován přímo v jádře, může být dokonce přímo navázán na DNA. Na rozdíl od cytoplazmatických receptorů nebývá v inaktivovaném stavu obklopen žádnými dalšími proteiny a je pro něj charakteristické, že působí buď jako hetero- nebo jako homodimer (např. receptor pro vitamin D).

Na DNA pak rozlišíme dva základní typy hormon-responsivních elementů: Pokud receptory fungují jako homodimery, váží se na palindromické sekvence; pokud tvoří heterodimery, nasedají na párové repetice.

Některé z uvedených steroidních receptorů mohou párovat i s jinými transkripčními faktory a skrze protein-proteinové interakce tak regulovat transkripci dalších genů.

Kromě toho se můžeme u steroidů setkat také s negenomovým mechanismem účinku, který spočívá v zapojení aktivovaného hormon-receptorového komplexu do některé z buněčných signalizačních drah, vedoucích od membránových receptorů přes protein-kinázové kaskády až k aktivaci příslušných transkripčních faktorů a jimi regulovaných genů (tzv. cross-talk). V krajním případě se může steroidní hormon přímo vázat na membránový receptor (Nussey & Whitehead 2001; Beato & Klug 2000).

4.2 Glukokortikoidy

4.2.1 Místa syntézy

Glukokortikoidy jsou syntetizovány ve dvou vrstvách kůry nadledvin: zona fasciculata (převážně) a zona reticularis (pouze v malém množství). Těmito a nejsvrchnější vrstvou, zona glomerulosa, je místem tvorby mineralokortikoidů. Nejdominantnějšími glukokortikoidy jsou kortizol (4-pregnen-11 β ,17,21-triol-3,20-dion) a kortikosteron (4-pregnen-11 β ,21-diol-3,20-dion) a jejich inaktivní formy kortizon (4-pregnen-17,21-diol-3,11,20-trion) a 11-dehydrokortikosteron (4-pregnen-21-ol-3,11,20-trion) (Guyton & Hall 2006).

4.2.2 Účinky

Účinky glukokortikoidů jsou pleiotropní. Už z názvu vyplývá, že mají vliv na hladinu glukózy v krvi. Kromě toho ovlivňují i některé další metabolické procesy, činnost nervového systému, programovanou buněčnou smrt a celkový vývoj organismu. Nezastupitelnou úlohu mají i regulaci stresové odpovědi.

Glukokortikoidy jsou využívány také ve farmaceutickém průmyslu, a to pro své imunosupresivní a protizánětlivé účinky (Blum & Maser 2003).

4.2.3 Mechanismy regulace

Působení glukokortikoidů je regulováno na několika úrovních.

4.2.3.1 HPA osa

První z nich je osa hypotalamusohypofýzová nadledvin (hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPA), jejíž počátek se nachází v paraventriculárním jádru hypotalamu (paraventricular nucleus, PVN). Buňky PVN jsou aktivovány buď přímo prostřednictvím nervových drah vedoucích ze sensorických receptorů a enteroreceptorů nebo pomocí limbického systému, kam patří i část z různých částí mozku a výsledný signál (stimulace i inhibice) je přenesen do PVN.

Aktivované buňky PVN vylučují mimo jiné ACTH-liberin (corticotropin-releasing hormone, CRH), který se váže na receptory v adenohypofýze a přes signální kaskádu zde spouští vylučování kortikotropinu (adrenocorticotrophic hormone, ACTH). Vazebná místa pro tento hormon se pak nacházejí přímo na buňkách tvořících steroidní hormony.

Důležitým principem, který se uplatňuje v rámci fungování HPA osy, je zpětná vazba: zvýšená hladina glukokortikoidů je zaznamenávána receptory v PVN, limbickém systému i adenohypofýze, má za následek vylučování menšího množství AVP, CRH a ACTH na příslušných místech a následné snížení syntézy glukokortikoidů nadledvinami (Hermana & Cullinan 1997).

4.2.3.2 Prereceptorová regulace

Další úroveň regulace se odehrává přímo v cílových buňkách, kde probíhá přeměna aktivních hormonů (kortikosteron, kortizol) na inaktivní (11-dehydrokortikosteron, kortizon) a naopak. Inaktivní hormony se vyznačují tím, že jsou v poloze 11 substituovány keto- skupinou, zatímco aktivní formy mají v této poloze hydroxy- skupinu. Hlavními enzymy, které se podílejí na jejich vzájemné přeměně, jsou 11-hydroxysteroiddehydrogenázy typu 1 a 2 (11-HSD1, 11-HSD2).

11-HSD1 můžeme najít v mnoha tkáních, přičemž nejvyšší hladina exprese je pozorována v játrech, tukové tkáni, gonádách a v některých oblastech mozku. Z hlediska regulace imunitní odpovědi je významná také její lokalizace v buňkách makrofágů. *In vitro* je schopna katalyzovat oxidaci i redukci v závislosti na poměru oxidovaných a redukovaných koenzymů NADP⁺, resp. NADPH, ale *in vivo* v tkáni převažuje koncentrace redukovaného NADPH a 11-HSD1 proto funguje jako reduktáza. Enzymem, který generuje NADPH, a ovlivňuje tím poměr NADP⁺/NADPH v buňce, je hexóza-6-fosfát-dehydrogenáza (H6PDH), nacházející se v lumen endoplazmatického retikula.

11 β -HSD2, která se vyskytuje v ledvinách, stěně placenty a slinných žlázách, naopak má níže redukované deriváty na inaktivní oxidované. Je to jednosměrný enzym, reduktázová aktivita u něj nebyla zaznamenána. Jako kofaktor využívá NAD⁺. Jeho hlavní funkcí je ochrana mineralokortikoidních receptorů před nadbytkem glukokortikoidů (viz. kapitola 4.2.4) (Draper & Stewart 2005).

4.2.3.3 Množství transportních proteinů

V krevním séru je většina kortizolu (90-95%) vázaná na transportní bílkoviny transkortin (cortisol-binding protein, CBP) a albumin. Biologicky aktivní je však pouze ta frakce hormonu, která je volná, nevázaná. Koncentrace proteinů transportních bílkovin má proto sloužit jako další mechanismus zesílení i zeslabení glukokortikoidního účinku. (Guyton & Hall 2006).

S vazbou na transportní bílkoviny souvisí ještě jeden aspekt: kortizol se váže mnohem ochotněji než kortizon, a tak přestože celková hladina kortizolu v krvi je koliknásobně převyšuje celkovou hladinu kortizonu, u volných frakcí je poměr přibližně vyrovnaný (Nomura et al. 1997), a tudíž citlivý na jemné regulační zásahy (např. 11 β -HSD-zprostředkovávaná oxidace/redukce).

4.2.3.4 Množství receptorů

Intenzita působení glukokortikoidů je samozřejmě závislá také na množství proteinů transportních receptorů v daném místě.

4.2.4 Glukokortikoidní a mineralokortikoidní receptory

Oba typy receptorů, glukokortikoidní (GR) i mineralokortikoidní (MR), váží s vysokou afinitou kortizol a ještě lépe kortikosteron, avšak pouze MR jsou schopny vázat se stejnou afinitou i aldosteron. Problém spoívá v tom, že sérová koncentrace kortizolu je mnohonásobně vyšší, než koncentrace aldosteronu (kortizol cca 120 ng/l, aldosteron cca 0.06 ng/l); za běžných podmínek by tedy kortizol obsadil většinu vazebných míst na MR a aldosteron by se nemohl vázat. Aby k tomu nedocházelo, je ve tkáních, jež jsou cílovými místy pro mineralokortikoidy, exprimována 11 β -HSD2. Ta má vysokou afinitu pro kortizol a oxiduje jej na kortizon, čímž lokálně snižuje koncentraci aktivního glukokortikoidu.

Při poruchách v expresi 11 β -HSD2 se na MR váže kortizol a dochází k zahájení stejných fyziologických procesů jako při vazbě aldosteronu: zpětná resorpce Na⁺ iontů a vody v ledvinných tubulech, vylučování K⁺ a H⁺ iontů, zvýšený objem krve a s ním spojená hypertenze. Tyto příznaky jsou souhrnně označovány jako syndrom zjevného mineralokortikoidního excessu (apparent mineralocorticoid excess, AME) (Blum & Maser 2003).

4.3 Dehydroepiandrosteron (DHEA)

4.3.1 Biosyntéza DHEA

Prekurzor řady steroidních hormonů, dehydroepiandrosteron (5-androsten-3 α -ol-17-on; DHEA), je u primátů syntetizován především v kůře nadledvin (konkrétně v zona reticularis) a dále vzniká během steroidogeneze ve varlatech a vaječnících. Naproti tomu u hlodavců je tvořen jen ve velmi malém množství (Cutler et al. 1978). Jeho syntéza probíhá dle následujícího schématu:

Nejprve je mitochondriálním enzymem P450_{SCC} odstraněn postranní řetězec cholesterolu (uhlíky C22 až C27) a vzniká molekula zvaná pregnenolon (5-pregnen-3 α -ol-20-on). Ten je pak hydroxylován na uhlíku C17 na 17 α -hydroxypregnenolon (5-pregnen-3 α ,17 α -diol-20-on) a následně oxidován a zbaven uhlíky C20 a C21 jediným enzymem, CYP17A1. Podle reakcí, které katalyzuje, bývá někdy nazýván také 17 α -hydroxyláza a 17,20 lyáza (Obr. 2) (commons.wikimedia.org).

4.3.2 DHEA jako prekurzor steroidních hormonů

DHEA cirkuluje v krevním řečišti buď volný anebo (zvětšinou v tkáních) ve své sulfátové formě DHEAS, v níž je mnohem stabilnější. Obě formy slouží u lidí především jako zásobárna prekurzorů pro tvorbu pohlavních hormonů buď přímo v periferních tkáních. Přeměny jsou schopny jen v tkáních, konkrétně ty, které jsou vybaveny potřebným enzymatickým aparátem, což umožňuje jemnou regulaci a lokálně specifickou syntézu. Pro tento jev byl roku 1991 zaveden pojem *intrakrinologie* (Labrie 1991). Obzvláště významná je tato cesta tvorby pohlavních hormonů u žen po menopauze, kdy se ve vaječnících tvorba estradiolu zastavuje a jediným zdrojem tohoto hormonu je právě DHEA (Labrie et al. 2005).

U hlodavců tento model neplatí. Mají velmi nízkou hladinu sérového DHEA i DHEAS a pohlavní hormony u nich vznikají výhradně v pohlavních orgánech (Cutler et al. 1978).

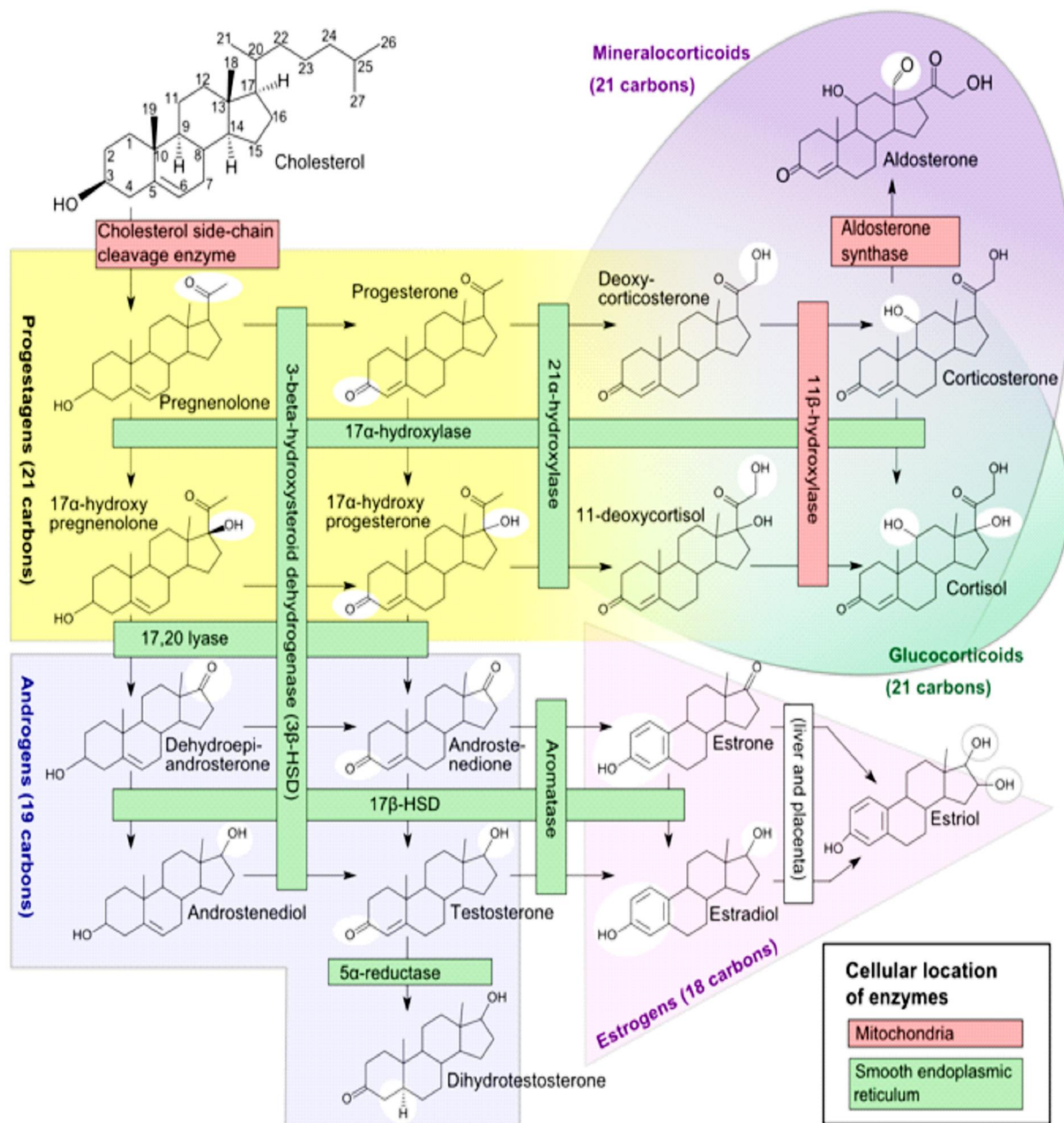
4.3.3 Změny v koncentraci sérového DHEA během ontogeneze

Hladina DHEA i DHEAS se u lidí obecně mění s věkem, a to v závislosti na pohlaví.

Hladina DHEA od prvního měsíce pomalu klesá, a to až do věku 5 až 7 let u dívek a 5 až 9 let u chlapců. Následuje vzestup s maximem pro obě pohlaví kolem dvaceti let a opětovný pokles; u mužů hladina klesá do konce života, zatímco u žen pouze do věku cca 36 let, následně mírně stoupá a po dosažení lokálního maxima definitivně klesá. Během života můžeme zaznamenat tři hlavní období, kdy je hladina DHEA výrazně vyšší u žen než u mužů: puberta (11 až 15 let), období před menopauzou (36 až 45 let) a starší věk (nad 60 let).

Naproti tomu hladina DHEAS je po celý život vyší u mužů. Během prvního roku života u obou pohlaví prudce klesá a je udržována na minimální hodnotě po dalších pěti letech. Poté pomalu narůstá, dosahuje maxima okolo 24 let u žen a 30 let u mužů a následně klesá po zbytek života (Těmlová et al. 1997).

U laboratorních hlodavců je v raných vývojových stádiích hladina DHEA pod detekčním limitem a u pohlavně zralých zvířat se tvoří pouze malé množství tohoto steroidu (Cutler et al. 1978).



Obr. 2: Steroidogeneze (commons.wikimedia.org)

4.3.4 DHEA jako neuroaktivní neurosteroid

Neurosteroidy jsou steroidní hormony, které mohou být syntetizovány přímo bukami nervového systému a hromadit se v něm, nezávisle na steroidogenních flázách. V průběhu několika let bylo prokázáno, že tato definice platí také pro DHEA, neboť: (1) jeho koncentrace v mozku je mnohokrát vyšší než v plazmě, (2) hladina hormonu v mozku zůstává zvýšená je dlouhou dobu po odebrání nadledvin či kastraci, (3) frekvence periodických změn hladiny DHEA během dne je v mozku jiná než v krvi.

Kromě toho byly v mozku lokalizovány enzymy (příp. jejich mRNA), které se podílejí na syntéze DHEA, a byly prokázány jejich enzymatické aktivity (přeměna triciem známých prekursorů na příslušné metabolity) (Rego et al. 2009).

DHEA a DHEAS plní v mozku řadu významných funkcí.

Endogenní hormony se účastní regulace různých neurologických procesů jako je poznávání, vzrušení, stres, deprese, úzkost, spánek či organizace pohybů spojených s potravním a sexuální chováním. Pravděpodobně zlepšují paměť (Baulieu & Robel 1998), chrání před excitotoxickým útokem aminokyselin a brání odumírání neuronů v průběhu stárnutí. Jako potenciální neurotrofní faktory hrají důležitou roli při vývoji neokortexu a remodelaci neuronální sítě (Lapchak & Araujo 2001).

U exogenních hormonů a při studiích *in vitro* bylo navíc prokázáno mnoho negenomových aktivit: váže se na proteiny asociované s mikrotubuly a tím stimuluje polymeraci tubulinu v axonu (vazba DHEA na tau protein) i dendritech (vazba DHEAS na MAP2 protein), mají vliv na počet intermediálních filamentů, fungují jako alosterické modulatory mnoha receptorů pro neurotransmitery (GABA_A receptor, NMDA, AMPA i kainátových glutamátových receptorů, sigma receptor, glycinových receptorů, serotoninových receptorů a obou receptorů pro acetylcholin – nikotinového i muskarinového typu), mají excitatorní účinky (DHEA zvyšuje intracelulární koncentraci Ca⁺²), mohou přímo aktivovat receptory spojené s G-proteiny (G protein-coupled receptors, GPCR) nebo nepřímo zesilovat/zeslabovat vazbu neuropeptidu. (Liu & Dillon 2002; Liu & Dillon 2004; Rego et al. 2009).

Mechanismus, jakým je syntéza neuroaktivních neurosteroidů kontrolována, není dosud přesně popsán.

4.4 DHEA metabolity a jejich syntéza

4.4.1 Intermediáty na cestě k pohlavním hormonům

Vzhledem k tomu, že DHEA je na prvním místě prekurzor estrogenů a androgenů, soustřeďuje se nejvíce pozornost právě na tyto metabolity, které jsou součástí dráhy vedoucí od DHEA k pohlavním hormonům (Obr. 2).

Prvním z nich je *androstendion* (4-androsten-3,17-dion), který vzniká působením enzymu 3 β -hydroxysteroiddehydrogenázy/5 β -4-izomerázy (3 β -HSD) na DHEA. Dochází zde k oxidaci 3 β -hydroxylové skupiny na 3-oxo skupinu a zároveň k přesunu dvojné vazby z polohy na C5 do polohy na C4.

Androstendion je poté konvertován na *testosteron* (4-androsten-17 β -ol-3-on) 17 β -hydroxysteroiddehydrogenázou.

Alternativní cesta od DHEA k testosteronu spočívá pouze v záměně po adí, v níž oba enzymy působí: nejdříve 17 β -HSD přemění DHEA na *androstendiol* (5-androsten-3 β ,17 β -diol) a následně 3 β -HSD vytvoří z androstendiolu testosteron.

Působením 5 α -reduktázy, je testosteron zbaven dvojné vazby na C4 a vzniká z něj *dihydrotestosteron* (5-androstan-17 β -ol-3-on).

Aromatizací A kruhu androstendionu a odštěpením uhlíku C19 aromatázou dochází k přeměně androstendionu na *estron* (1,3,5(10)-estratrien-3 β -ol-17-on), první z estrogeních hormonů.

Estradiol (1,3,5(10)-estratrien-3,17 β -diol) pak vzniká buď redukcí 17-keto skupiny estronu pomocí 17 β -HSD anebo přímo v těle aromatizací testosteronu aromatázou (Labrie et al 1995).

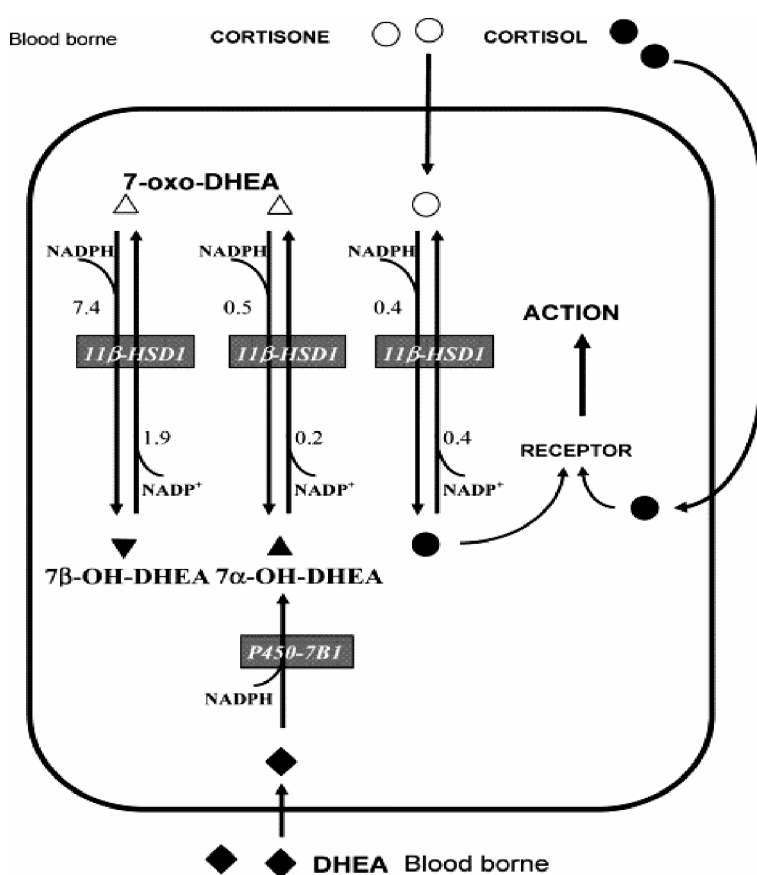
4.4.2 7-OH a 7-oxo- deriváty

Kromě toho však existuje ještě jiná metabolická dráha, která zahrnuje hydroxylaci DHEA na 7 β -OH-DHEA (5-androsten-3 β ,7 β -diol-17-on), jeho následnou oxidací na 7-oxo-DHEA (5-androsten-3 β -ol-7,17-dion) a způsobem redukci na 7 β - nebo 7 α -OH-DHEA (5-androsten-3 β ,7 β -diol-17-on) (Obr. 3). Právě tyto metabolity a reakce jejich vzájemných enzymatických přeměn jsou zřejmě do značné míry zodpovědné za antiglukokortikoidní efekt spojovaný dříve pouze s DHEA (viz. kapitola 2). Přepínání z oxidace DHEA (po ústřední cestě k pohlavním hormonům) na jeho 7-hydroxylaci má na svém domě mj. prozántlivý faktor IL-1, vyvolaný aktivovanými makrofágy v místě zánětu (Dulos et al. 2004).

Prvním krokem této alternativní metabolické dráhy je hydroxylace DHEA na 7 β -hydroxy-DHEA. U lidí byla dosud prokázána v mozku, játrech, prostatě, kůži a mandlích

(Muller et al. 2006). Provádí ji enzym z rodiny cytochrom P450, CYP7B1, který je exprimován v mnoha lidských tkáních včetně mozku, ledvin, jater, gonád, stěva, mandlí aj. Většina studií potvrzuje jeho lokalizaci v membráně endoplazmatického retikula, a koliv existují i data, která hovoří pro jeho výskyt v mitochondriích (Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology). Další skupina enzymů, která je schopná provádět hydroxylaci DHEA je podrodina cytochrom CYP3A. Tyto enzymy se nacházejí v játrech a ve stěva a někdy autoi uvádí, že v těchto tkáních jsou pravděpodobně zodpovědné za vztinu 7-hydroxylační aktivity (Robinson et al. 2003; Fitzpatrick et al. 2001).

Druhým krokem je oxidace 7-OH-DHEA na 7-oxo-DHEA jifl zmi ovanou 11 β -HSD1 za přítomnosti NADP⁺.



Obr. 3: 11 β -HSD1-zprost edkovaná oxidace/redukce kortizolu/kortizonu a DHEA metabolitů. Čísla vedle šipek znázorňují poměr Vmax/KM pro jednotlivé reakce (Muller et al. 2006)

Kupodivu nebyl nalezen žádný enzym, který by hydroxyloval DHEA na 7-OH-epimer, přestože hladina 7-OH-DHEA v lidském séru je téměř ekvivalentní hladině 7-OH-steroidu (Matsuzaki et al. 2004). Postupně byla navržena a následně ověřena hypotéza, že 7-OH-DHEA vzniká výhradně redukcí 7-oxo-DHEA, a že tuto redukci provádí tentýž enzym, který oxiduje

7-OH-DHEA na 7-oxo-DHEA, tedy 11-HSD1. Reakce je, stejn jako u glukokortikoid , závislá na pom ru NADP+/NADPH, zde v-ak tento pom r rozhoduje krom sm ru reakce pravd podobn také o mnofství 7- i 7-OH- epimeru (Muller et al. 2005). In vitro, v p ítomnosti NADP+/NADPH regenerujícího systému probíhají ob reakce (oxidace i redukce) s v t-í katalytickou ú inností pro 7-OH-DHEA (Tab. 1), coí se u lidí projeví vznikem dvakrát v t-ího mnofství 7-OH- epimeru (Hennebert et al. 2007, Robinson et al. 2003).

| Reakce | K_M (M) | V_{max} (pmol · min ⁻¹ · g ⁻¹) | V_{max}/K_M |
|------------------------|-------------|---|---------------|
| Oxidace | | | |
| Kortizol → kortizon | 17 ± 2 | 7.3 ± 0.4 | 0.4 |
| 7-OH-DHEA → 7-oxo-DHEA | 70 ± 16 | 16 ± 2 | 0.2 |
| 7-OH-DHEA → 7-oxo-DHEA | 9.5 ± 0.5 | 18.3 ± 0.3 | 1.9 |
| Redukce | | | |
| Kortizon → kortizol | 2.8 ± 0.2 | 1.24 ± 0.03 | 0.4 |
| 7-oxo-DHEA → 7-OH-DHEA | 1.15 ± 0.04 | 0.55 ± 0.01 | 0.5 |
| 7-oxo-DHEA → 7-OH-DHEA | 1.13 ± 0.09 | 8.4 ± 0.2 | 7.4 |

Tab.1: Kinetické parametry rekombinantní 11-HSD1 exprimované v kvasinkách m ené po oxidaci/redukci [4-14C] zna ených substrát v izolovaných kvasinkových mikrozomech (Muller et al. 2005)

Nov j-í studie ukazují, íe 11-HSD1 není jediným enzymem, který provádí vzájemnou p em nu kyslíkatých derivát DHEA.

U potkan se nap íklad na oxidaci podílí je-t 11-HSD2, která se nachází v jádrech ledvinných bun k (Robinson et al. 2003). Existence více typ dehydrogenáz v r zných organelách vyplývá také z výsledk experiment s prase ími ledvinami (Robinson et al. 2005) a s jedním enzymem si nevysta íme ani p í interpretaci n kterých dat nam ených b hem p em ny 7-oxo-DHEA na 7-OH-deriváty: P í redukci v potkaních játrech bylo pouze 15-30% 7-oxo-derivátu p em n no na 7- nebo 7-OH- formu, zbytek byl redukován na neidentifikované metabolity. V prase ích játrech se tém v-echen 7-oxo-DHEA zredukoval na stejné mnofství 7-OH- a 7-OH- epimeru a reakce byla zcela blokována karbenoxenonem (CBX), zatímco v lidských játrech bylo 7-OH- epimeru dvakrát mén a reakce byla inhibována CBX pouze z 50%. Navíc specifický ligand pro 11-HSD1 (dehydrokortikosteron) zablokoval pouze reakci b ílící sm rem k 7-OH-DHEA, na vznik 7-OH-DHEA nem í žádný vliv (Robinson et al. 2003).

Krom existence více typ dehydrogenáz m flme z t chto výsledk odvodit také mezidruhové rozdíly v metabolismu DHEA, což zna n komplikuje celý výzkum v této oblasti, kdyfl vezmeme v úvahu, fl v t-ina pokus probíhá na zví atech.

5 Antiglukokortikoidní potenciál DHEA a jeho metabolit

5.1 Negativní ú inký glukokortikoid

Jiř bylo zmín no, fl glukokortikoidy jsou d leřitými stresovými hormony, umořl uj t lu adekvátn reagovat na vnit ní i vn j-í stresové stimuly. Tato schopnost je v-ak provázena mnoha neřádoucími vedlej-ími ú inký, z nichř nejvýrazn j-í jsou: degenerace k fl, osteoporóza, svalová dystrofie, -edý a zelený zákal, výkyvy nálad a chování, poruchy pam ti a poznávání, atrofie mozku, Cushing v syndrom, diabetes mellitus, atrofie nadledvin, zpomalení r stu, hypernatrémie a hypokalémie, vysoký krevní tlak, trombózy, vaskulitidy, oslabení imunitního systému i zán tlivá onemocn ní trávicího traktu (Schäcke et al. 2002). Mnohé z t chto symptom jsou zárove známkami stárnutí organismu.

Vzhledem k tomu, fl hladina glukokortikoid z stává po celý řivot p íblířn konstantní a nem fl tedy být za tyto zm ny zodpov dná, uvařlovalo se o jiné molekule, která by chránila organismus p ed ú inký glukokortikoid a jejíř hladina by s v kem klesala. Takovou molekulou m l být DHEA.

5.2 Mořné mechanismy antiglukokortikoidního p sobení DHEA a jeho metabolit

Existuje n kolik vzájemn se nevyly ujících hypotéz o antiglukokortikoidním p sobení DHEA a jeho derivát . V následujícím textu jsou ozna eny jako mechanismy (1) ařl(4):

(1) P ířlu-ný steroid se m fl vázat na n které bun né receptory a spou-t t signaliza ní dráhy, jejichř výsledkem jsou procesy opa né k proces m zahajovaným vazbou glukokortikoid .

(2) Nebo se m fl jako kompetitivní i akompetitivní inhibitor vázat na receptory pro glukokortikoidy a bránit aktivaci p ířlu-ných signaliza ních drah.

(3) Stejným mechanismem kompetitivní i akompetitivní inhibice m fl blokovat enzymy, které jsou nezbytné pro p em nu inaktivních forem glukokortikoid na aktivní.

(4) Poslední možností je, že DHEA a jeho deriváty působí je-t o úroveň, tzn. ovlivují expresi enzymů glukokortikoidního metabolismu, a tak zprostředkovaně regulují koncentraci aktivních forem tohoto hormonu.

5.3 DHEA jako antiglukokortikoid

Antiglukokortikoidní účinky DHEA jsou zkoumány již několik desítek let. Mnohé pokusy hovoří ve prospěch antiglukokortikoidního charakteru DHEA, ale podle spousty dalších je jeho efekt nulový a dokonce opačný. (Dhatariya & Nair 2003, Oberbeck & Kobbe 2010). Navíc DHEA vykazoval své antiglukokortikoidní účinky především *in vivo*; pokusy *in vitro* byly často neúspěšné (Kalimi et al. 1994). Při hledání molekulární podstaty tohoto jevu se původní koncept omezoval pouze na mechanismy (1), (2) a (3) z předchozí kapitoly a žádný z nich se dlouho nepodařilo u DHEA spolehlivě prokázat. To vedlo k postupnému odklonu od DHEA jako hlavního antiglukokortikoidu, a pozornost se začala obracet spíše k jeho metabolitům (viz. kapitoly 5.4 a 5.6). Dnes se však DHEA vrací opět na scénu, a to hlavně v roli specifického ligandu a regulátoru transkripce.

Dlehlitá je také celá velká experimentální oblast zabývající se DHEA jako neurosteroidem, nebo dosud nebyla objasněna podstaty věch jeho účinků na nervovou soustavu a není vyloučeno, že některé z nich jsou antiglukokortikoidní povahy.

5.3.1 DHEA a mechanismus (1)

Byla potvrzena existence několika DHEA-specifických signalizačních drah, jejichž konečný efekt je opačný k efektům spouštěným glukokortikoidy. (viz. kapitola 4.3.5)

5.3.2 DHEA a mechanismus (4)

DHEA ovlivňuje transkripci některých dlehlitých genů, konkrétně genů pro 11 β -HSD1, 11 β -HSD2 a H6PDH.

5.3.2.1 Exprese 11 β -HSD1

Postupně prokázáno DHEA-zprostředkované snížení exprese 11 β -HSD1 v lidských kosterních myoblastech (Whorwood et al. 2001), potkaních játrech (Gu et al. 2003) a v 3T3-L1 adipocytech (Apostolova et al. 2005).

U jater ani kosterních myoblastů nebyl dále zkoumán mechanismus, jakým DHEA na *HSD1B1* gen působí, u 3T3-L1 adipocytů však byla za tímto účelem provedena analýza exprese několika genů, které souvisejí s regulací *HSD1B1*. Jednalo se o geny pro: transkripční faktory C/EBP β (CCAAT/enhancer-binding protein), silný aktivátor transkripce *HSD1B1*

a slabší aktivátor *HSD2B11*); C/EBP (naopak silně aktivuje transkripci *HSD2B11* a méně silně transkripci *HSD1B11*) a C/EBP; receptory PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) a PPAR (oba snižují expresi *HSD1B11*); koaktivátor PPAR receptoru PGC-1 (PPAR coactivator 1) a receptor LXR (liver X receptor, rovněž snižuje expresi *HSD1B11*). Výsledky odhalily snížený poměr C/EBP β ku C/EBP α a C/EBP β , dále zvýšenou expresi PPAR α a PGC-1 a sníženou hladinu mRNA pro PPAR α a H6PDH. Pozměnění exprese všech těchto genů i samotného *HSD1B11* genu byla nakonec potvrzena *in vivo* na myších.

Jak přesně DHEA ovlivňuje hladinu jednotlivých C/EBP proteinů není dosud přesně známo, ale jako nejpravděpodobnější se jeví signalizace přes GPCR, fosfatidylinositol 3-kinázu, fosfatidylinositol 3,4,5-trisfosfát, fosfolipázu C- α , ionty Ca²⁺ a proteinkinázu C- α – tedy stejnou signalizační dráhu, kterou vyvolává například inzulin pro translokaci glukózových transportérů z cytosolu do plazmatické membrány.

Trochu překvapivá byla snížená exprese PPAR α , který má sám o sobě negativní účinky na expresi 11 β -HSD1 (Berger & Moller 2002). Jako jedno z možných vysvětlení se nabízí souasná zvýšená exprese PPAR α -koaktivátoru PGC-1, který by mohl stimulovat účinek PPAR navzdory jeho snížené expresi.

Zajímavá je rovněž zvýšená hladina PPAR α mRNA, a to z toho důvodu, že jeho transkripci v játrech stimulují mj. aktivované GR. Tím pádem se jedná v podstatě o zpětnou vazbu: čím více glukokortikoidů, tím více bude GR s navázaným ligandem, tím více PPAR α a tím méně 11 β -HSD1 a aktivních glukokortikoidů (Apostolova et al. 2005).

5.3.2.2 Exprese genu pro 11 β -HSD2

DHEA má vliv rovněž na transkripci genu pro 11 β -HSD2. Závislost byla prokázána nejdříve *in vitro* na linii buněk z korové části ledvinného sbírného kanálku potkana a posléze *in vivo* na ledvinách laboratorních myší a potkanů.

I zde byla zjištěna molekulární podstata: jedná se opět o změnu poměru transkripčních faktorů z rodiny C/EBP signalizací přes GPCR a PI3K; tentokrát ale snížený poměr C/EBP β ku C/EBP α vedl nikoliv ke snížení, ale ke zvýšení transkripce 11 β -HSD2. C/EBP se regulace zřejmě neúčastní. Daný mechanismus však fungoval pouze na kultuře buněk z ledvinného kanálku; na expresi 11 β -HSD2 ve dvou buněčných liniích tlustého střeva neměl DHEA žádný vliv. Lze tedy předpokládat, že regulace je takto specifická, tím spíše odlišná u různých organismů.

Na základě předchozích dvou studií vznikla hypotéza, že v některých tkáních reguluje DHEA hladinu aktivních glukokortikoidů u potkanů špeňáním exprese z 11 β -HSD1 na 11 β -HSD2 prostřednictvím transkripčních faktorů C/EBP (Balazs et al. 2008).

5.3.2.3 Exprese genu pro H6PDH

Již delší dobu je známo, že DHEA je nekompetitivním inhibitorem G6PDH (Gordon et al. 1995 aj.), ale jeho přímý vliv na H6PDH byl prokázán až v rámci výzkumu s 3T3-L1 adipocyty (Apostolova et al. 2005). Bylo zjištěno, že DHEA snižuje expresi H6PDH, tzn. v buňkách vzniká méně NADPH a je snížena NADPH-závislá redukční aktivita 11 β -HSD1 (viz. kapitola 4.2.3.2).

Všechny uvedené výsledky byly zatím získány pouze na myších a na potkanech, a je tedy třeba je ověřit jejich platnosti na lidském organismu.

5.4 7-OH-DHEA jako antiglukokortikoid

Antiglukokortikoidní účinky 7-OH-DHEA byly opakovaně zaznamenány během různých experimentů, zejména těch, které se zabývaly procesy souvisejícími s imunitní odpovědí (Chmielewski et al. 1999, Lafaye et al. 1999, Morfin et al. 1994). Výsledný efekt byl v té době dokonce silnější, než při použití stejných koncentrací DHEA, což vedlo k hypotéze, že antiglukokortikoidní účinky popisované pro vodní DHEA mohou být ve skutečnosti způsobeny jeho 7-hydroxylovanými metabolity.

5.4.1 7-OH-DHEA a mechanismus (1)

Zdá se nepravděpodobné, že by 7-OH-DHEA spouštěl expresi genů, jejichž produkty by svými účinky oslabovaly účinky glukokortikoidů, nebo v myších játrech, brzlíku, slinivce ani mozku nebyl nalezen žádný cytozolický receptor specifický pro 7-OH-DHEA (Morfin et al. 2002). Na druhou stranu dosud nebyla zkoumána existence specifického jaderného ani membránového receptoru, a není tudíž vyloučeno, že by 7-OH-DHEA mohl spouštět tu, která signalizační dráhu naplní prostřednictvím GPCR.

5.4.2 7-OH-DHEA a mechanismus (2)

7-OH-DHEA se neváže na GR ani nebrání jeho vazbu na DNA. To bylo prokázáno pro myší játra, brzlík, slinivku a mozek, játra potkana (Morfin et al. 2002) a rovněž pro lidský GR exprimovaný v kultuře COS-7 buněk (Muller et al. 2004).

Při pokusech s buněnými jádry izolovanými z jaterních buněk potkana však bylo zjištěno, že inkubace se 7-OH-DHEA má za následek menší množství aktivovaného GR v jádře (Morfin et al. 2002). Podstata tohoto jevu je zatím neznámá.

5.4.3 7 -OH-DHEA a mechanismus (3)

V n kterých organelových frakcích potkaních jater, ledvin a mozku, lidských jater a prase ích jater byla oxidace 7 -OH-DHEA na 7-oxo-DHEA inhibována karbenoxolonem (CBX) a kortikosteronem (CS), což poukazuje na možnost *in vivo* kompetice 7 -OH-DHEA s glukokortikoidy o vazebné místo na 11 -HSD1 (viz. kapitola 1.4.2.; Obr. 3). 7 -OH-DHEA má sice pro 11 -HSD1 zhruba dvakrát v tší afinitu než kortizon (Tab. 1), ale tento rozdíl se projev í pouze p í srovnatelných koncentrací obou steroid . V lidském séru je naproti tomu koncentrace 7 -OH-DHEA o n kolik ád menší, a s kortizonem tak nem í sout í (Muller et al. 2006). Výjimkou jsou n které patologické stavy í podávání lék podporujících 7-hydroxylaci, kdy m í dojít ke zvýšení pom ru 7 -OH-DHEA/glukokortikoidy (Morfin et al. 2002). Ani toto zvýšení sice nemusí být dosta uující pro systémovou odpov í, ale má velký význam na autokrinní í parakrinní úrovni. Práv v t chto souvislostech se dnes o antiglukokortikoidním ú inkou 7 -OH-DHEA uvafluje nej ást jí.

5.5 7 -OH-DHEA jako antiglukokortikoid

Antiglukokortikoidní ú inký 7 -OH- derivátu nebyly dosud komplexn testovány, navzdory tomu, íe hladina 7 - a 7 -OH-DHEA je v lidském séru p íb íln í stejná, a íe jeho antiglukokortikoidní vlastnosti byly náhodn zaznamenány v rámci n kolika studií. P íkladem m í být experiment z roku 1999, kdy byl pozorován negativní vliv 7 -OH-DHEA na imunosupresivní aktivitu syntetického glukokortikoidu dexamethasonu (Sterzl et al. 1999).

5.5.1 7 -OH-DHEA a mechanismus (3)

Co se tý e možných mechanism antiglukokortikoidního p sobení, je zatím nejvíce známo o interakci 7 -OH-DHEA s 11 -HSD1.

7 -OH-DHEA je tvo en tímto enzymem ze 7-oxo-DHEA, a to s n kolikanásobn v tší ú inností než jeho 7 -epimer. Také opa ná oxida ní reakce vykazuje vyší pom r V_{max}/K_M pro 7 - než pro 7 -OH-DHEA. Co více, ob reakce, reduk ní í oxida ní, probíhají v p ítomnosti $NADP^+/NADPH$ generujícího systému ochotn jí, než oxidace a redukce glukokortikoid (Tab. 1), což staví tento steroid do pozice silného potenciálního antiglukokortikoidu (Muller et al. 2005).

Antiglukokortikoidní charakter obou 7-OH-epimer í je v-ak velmi relativní. Na bun ním lyzátu z HEK-293 bun k bylo zji-t no, íe 7 - í 7 -OH-DHEA inhibují za p ítomnosti p íslu-ných kofaktor s v tší ú inností oxidaci glukokortikoid í jejich redukci (viz. Tab. 2). Ve shod

s tímto pozorováním dopadly také experimenty s živou kulturou HEK-293 buněk, které exprimovaly buď pouze 11 β -HSD1 nebo 11 β -HSD1 spolu s H6PDH:

V buňkách exprimujících souasně 11 β -HSD1 i H6PDH panuje výrazná převaha NADPH nad NADP⁺, takže zde oxidace glukokortikoidů probíhá pouze minimálně a 7 α -i 7 β -OH-DHEA šjsou nuceny inhibovat redukční reakci. Inhibice však není příliš efektivní; v porovnání s ostatními testovanými látkami jsou zapotřebí mnohem vyšší koncentrace těchto steroidů (Balázs et al. 2009).

Naproti tomu ve tkáních, které exprimují pouze 11 β -HSD1, je poměr NADP⁺/NADPH vyrovnanější, a 11 β -HSD1 zde může do velké míry fungovat jako oxidáza (Atanasov et al. 2008). Tady už se může uplatnit rozdíl v účinnosti inhibice obou reakcí a 7-OH-epimery budou jednoduše inhibovat oxidaci glukokortikoidů, což povede ke zvýšení koncentrací aktivních hormonů v dané buňce. Tento efekt je zvláště patrný u 7 α -OH-DHEA, který je ideálním substrátem pro 11 β -HSD1 a dokáže blokovat 11 β -HSD1-zprostředkovanou oxidaci glukokortikoidů již při nízkých koncentracích (Balázs et al. 2009).

5.6 7-oxo-DHEA jako antiglukokortikoid

7-oxo-DHEA je teoreticky jediný metabolit DHEA, který může soutěžit s oxidovanými glukokortikoidy o procesování 11 β -HSD1. Je totiž redukován za přítomnosti NADPH, tedy stejného koenzymu, který je třeba pro redukci glukokortikoidů. Ve prospěch 7-oxo-DHEA hovoří i kinetické údaje: K_M pro jeho redukci je mnohem nižší, než pro redukci glukokortikoidů a V_{max} je naopak několikrát vyšší (v případě redukce na 7 α -OH-DHEA) (Tab. 1). Nad očekávání pozitivní výsledky přinesly také experimenty s HEK-293 buňkami; 7-oxo-DHEA účinně inhiboval redukci kortizolu, a to nezávisle na expresi H6PDH v dané kultuře (Balázs et al. 2009).

In vivo však zatím nebylo dosaženo žádných významných výsledků (Sulcova et al. 2001).

6 Antiglukokortikoidní vlastnosti DHEA a jeho metabolitů v klinické praxi

6.1 Fyziologické účinky DHEA a jeho metabolitů

6.1.1 Účinky DHEA za normálního a patologického stavu

Vtírána efekt DHEA byla popsána u laboratorních zvířat. DHEA u nich inhibuje

diferenciaci adipocytů a s tím spojenou lipogenezi, snižuje hladinu sérového inzulínu a zvyšuje jeho citlivost, snižuje hladinu G6PDH, způsobuje pomalejší přibývání na váze, i dokonce váhové ztráty, brání hypertenzi, inhibuje tvorbu aterosklerotických plaků, brání apoptóze mnoha typů buněk, pozitivně působí na paměť, také brání odumírání nervových buněk v hipokampální buněčné kultuře, přičemž hipokampus je považován za centrum paměti, zvyšuje kostní hustotu, působí jako antioxidant v játrech a ve střevě a má vliv na činnost imunitního systému. Zajímavé je, že u imunitního systému byla zaznamenána jak DHEA-zprostředkováná aktivace, tak inhibice (Kalimi et al. 1994, Dhatariya & Nair 2003, Oberbeck & Kobbe 2010). V tělně potvrzených účincích DHEA je opačných k účinkům glukokortikoidů, ale je třeba dalších, podrobnějších studií, abychom byli schopni rozlišit, zda DHEA v jednotlivých případech opravdu nějak zasahuje do lokálního metabolismu glukokortikoidů nebo zda inhibuje jejich účinky jinými mechanismy na systémové úrovni.

U lidí bylo provedeno mnoho korelačních i intervenčních studií, ale výsledky nebyly vzájemně konzistentní (Dhatariya & Nair 2003, Oberbeck & Kobbe 2010).

Kromě toho bylo prokázáno, že DHEA zmírňuje příznaky u kterých onemocní a pomáhá návratu do normálního stavu. Konkrétně se jedná o alergickou encefalomyelitidu (Oberbeck & Kobbe 2010), organické poruchy mozku (např. Alzheimerova choroba, multiinfarktová demence, aj.) (Dhatariya & Nair 2003), otravu krve, systémový zánět, artritidu (Oberbeck & Kobbe 2010), experimentální kolitidu (Pélissier et al. 2006) (včetně laboratorních hlodavců) a systémový lupus (u lidí) (Oberbeck & Kobbe 2010). U několika dalších autoimunitních chorob pak byla zjištěna negativní korelace s hladinou DHEA (Oberbeck & Kobbe 2010).

6.1.2 Fyziologické účinky 7-oxidovaných DHEA metabolitů

Na DHEA metabolity se zaměřila pozornost teprve nedávno, proto o jejich účincích zatím nevíme tolik, jako o účincích DHEA. Nejvíce je zkoumán jejich vliv na imunitní systém.

Konkrétně bylo zaznamenáno, že po podání 7-OH-DHEA ke kultuře T- a B-lymfocytů z lidských mandlí se zvýší produkce protitetanickeho toxoidu a Ig G protilátek proti bakterii *Bordetella pertussis* (Lafaye et al. 1999); u myši vedla aplikace 7-OH-DHEA k posílení imunitní odpovědi (Morfin et al. 2000) a u potkanů zejména v játrech byly zaznamenány jeho antioxidantní účinky (Pélissier et al. 2004).

Trochu matoucí jsou výsledky pokusu s myšmi slezinnými buňkami. Syntetický glukokortikoid dexamethason u nich potlačil primární imunitní odpověď a tento efekt byl ještě zesílen podáním DHEA, 7-OH-DHEA i 7-OH-DHEA (v nížších koncentracích); 7-OH-DHEA byl však zároveň schopen zvrátit tlumivý efekt dexamethasonu (Sterzl et al. 1999).

6.1.3 7-oxidované DHEA metabolity za patologického stavu

U myší s experimentálně navozenou artritidou byla detekována zvýšená exprese CYP7B a zvýšená hladina 7-OH-DHEA a 7-OH-DHEA v synoviální tekutině kolenního kloubu, při 6měsíční inkubaci izolovaných synoviocytů (fibroblast-like synoviocytes, FLS) s IL-1 α posílila tento trend (Dulos et al. 2004).

Podobně u FLS odebraných pacientů trpících revmatoidní artritidou byla detekována CYP7B mRNA i enzymatická aktivita. Inkubace těchto buněk s prozántlivými cytokiny IL-1 α a TNF- α vedla ke stimulaci 7-hydroxylační aktivity, zatímco inkubace s protizántlivým cytokinem TGF- β k její inhibici (Dulos et al. 2006).

Zvýšená hladina 7-OH-DHEA byla už dříve několikrát dána do souvislosti se zvýšenou aktivitou imunitního systému (Chmielewski et al. 1999, Lafaye et al. 1999, Morfin et al. 1994), což vede k hypotéze, že 7-OH-DHEA působí jako imunostimulační agens, čímž, naopak, potlačuje imunosupresivní účinky glukokortikoidů.

Vedle toho se však objevuje také protichůdná hypotéza, která předpokládá, že úkolem 7-OH-DHEA je chránit tkáň před zántlivými procesy. Toto tvrzení je založeno zejména na experimentu, v němž byl skupině potkanů po několik dní podáván DHEA nebo 7-OH-DHEA a následně u nich byla pomocí dextranulfátu sodného navozena kolitida. Onemocněním bylo znatelně mírnější průběh u zvířat, jimž byly předem aplikovány steroidy. Součástí experimentu bylo také stanovení enzymatických aktivit 11 β -HSD1 a 11 β -HSD2. Výsledky ukázaly, že u zvířat trpících kolitidou byla pětibídně zdvojnásobena aktivita 11 β -HSD1, zatímco aktivita 11 β -HSD2 se rapidně snížila. Předchozí aplikace DHEA i 7-OH-DHEA měla vliv pouze na aktivitu 11 β -HSD1; její hodnoty zhruba odpovídaly hodnotám naměřeným u zdravých zvířat (Pélissier et al. 2004).

Tyto výsledky jsou poněkud matoucí, nebo předpokládáme-li, že DHEA a 7-OH-DHEA jsou molekuly s antiglukokortikoidním účinkem, měla by jejich aplikace snížením koncentrace aktivních glukokortikoidů v místě zánětu zhoršit průběh onemocnění.

6.2 Možné terapeutické využití DHEA

DHEA je zatím volně dostupný pouze v USA, kde je prodáván jako potravinový doplněk. V jiných státech je považován za anabolický steroid a jeho distribuce podléhá přísné kontrole. Vzhledem k tomu, že v médiích jsou často nepěsně prezentovány výsledky pokusů s DHEA na potkanech, mnoho lidí věří, že DHEA jim pomůže omládnout, zbaví je nadváhy, přidá jim svalovou hmotu a zlepší jim paměť. V nejnovějších studiích se však jasně ukázalo, že DHEA není pouze šnečkový steroidní prekurzor, ale skutečný hormon se svými specifickými

membránovými receptory a konkrétními účinky, a proto bychom měli být při jeho užívání velmi opatrní.

V poslední době se uvažuje o využití DHEA u pacientů se sníženou produkcí adrenálních hormonů nebo těch, kteří prodělali adrenalectomii. Tito pacienti sice netrpí vážnými zdravotními poruchami, nicméně předpokládá se, že by DHEA mohl zvýšit celkovou kvalitu jejich života.

Další cílovou skupinou jsou lidé s nadměrnou hladinou glukokortikoidů v krvi. Příčinou tohoto onemocnění bývá často porucha regulace glukokortikoidní syntézy i metabolismu.

Vzhledem k tomu, že negativní projevy glukokortikoidního působení jsou zvláště výrazné ve starším věku, je do DHEA vkládána velká naděje díky do molekuly zpomalující stárnutí.

Pokusy prováděné na zvířatech napovídají, že DHEA ovlivňuje řadu fyziologických procesů (viz. kapitola 6.1.1). Pokud porozumíme principům, na nichž je působení DHEA na organismus založeno, bude s jeho pomocí možné do všech těchto oblastí terapeuticky zasahovat.

6.3 Rizika a nejasnosti

6.3.1 Komplikace při výzkumu

K tomu, aby byl DHEA oficiálně schválen jako léčivo, vede ještě dlouhá cesta.

Hlavním problémem je, že většina studií týkajících se DHEA je prováděna na laboratorních hlodavcích, kteří nejsou pro tyto účely vhodným modelem. Jednak je u nich příliš nízká hladina sérového DHEA a jakákoliv podaná dávka exogenního hormonu u nich má zákonitě mnohem větší efekt než u lidí; jednak se zdá, že metabolismus 7-oxidovaných derivátů DHEA je druhově i tkáňově specifický, účastní se ho jiné enzymy a vykazuje rozdílnou kinetiku pro různé orgány a různé druhy živočichů (viz. kapitola 4.4.2). To, co se prokázalo na laboratorních zvířatech, nemusí tedy explicitně platit u lidí.

Zde narážíme na další překážku: při zkoumání vlivu DHEA na lidský organismus byly téměř ve všech oblastech získány matoucí výsledky, závěry jednotlivých studií si často odporovaly a nebylo možné najít v nich nějaký spojující prvek (Dhatariya & Nair 2003, Oberbeck & Kobbe 2010). Částečně to lze vysvětlit skuteností, že DHEA je *in vivo* transformován na různé metabolity, a příměsí každý z nich může mít v organismu jinou funkci. Také musíme počítat s vlivem pohlaví a věku, u žen může být efekt jiný, než u mužů, u starších jiný, než u mladých. Nakonec je třeba vzít v úvahu, že účinek DHEA i 7-OH- a 7-oxo-DHEA je závislý na jejich koncentracích (např. 7- a 7-OH-DHEA při nízkých koncentracích

stimulovaly redukcí kortizolu, zatímco při vyšších koncentracích ji inhibovaly (Balázs et al. 2009)), a také snížení i zvýšení dávky i délky podávání může zásadně ovlivnit výsledek pokusu.

6.3.2 Vedlejší účinky

Vedlejší účinky krátkodobého užívání DHEA nejsou nijak závažné. Výrazněji se projevují u žen, v těmto jsou spojeny s androgenními efekty a patří mezi například zvýšená produkce kožního mazu, akné, i nadměrné pocení a ochlupení (Dhatariya & Nair 2003). U mužů se setkáváme s mírně zvýšenou hladinou estrogenních hormonů. U obou pohlaví pak dochází ke zvýšení aktivity jaterních enzymů (Oberbeck & Kobbe 2010). V těmto těchto příznaků sama odezní po ukončení terapie.

Dlouhodobé užívání vedlo u laboratorních hlodavců ke vzniku jaterního nádoru (Dhatariya & Nair 2003); u lidí nebyly následky dosud stanoveny.

6.4 Jakým směrem se dále ubírat?

Vzhledem k tomu, že pro lokální regulaci hladiny glukokortikoidů je zcela zásadní poměr $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, bylo by třeba přesně zjistit, jakým způsobem je tento poměr svázán s expresí H6PDH a s aktivitou 11 β -HSD1.

Závislost směru reakce na poměru $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, resp. na expresi H6PDH, není úplně jednoznačná. 11 β -HSD1 totiž preferuje oxidázovou aktivitu před reduktázovou a při postupném snižování poměru $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ funguje jako oxidáza je to dlouho poté, co dosáhneme hodnoty jedna. K zajištění reduktázové aktivity je nutno dosáhnout minimálně desetinásobné převahy NADPH nad NADP^+ . V praxi by to znamenalo změnu oxidativního prostředí v endoplazmatickém retikulu (ER) na reduktivní, což ale není možné vzhledem k ostatním fyziologickým funkcím ER. Proto byla navržena hypotéza, že H6PDH stimuluje reduktázovou aktivitu 11 β -HSD1 nejen tvorbou redukovaného koenzymu, ale také pomocí protein-proteinové interakcí, kdy například může způsobit konformační změnu 11 β -HSD1, v níž by tento enzym ochotněji vázal NADPH.

Komplikovaná je také situace s H6PDH. V buňkách, které ji neexprimují, by 11 β -HSD1 měla fungovat výhradně jako oxidáza. Naproti tomu u nich byla detekována i reduktázová aktivita, a to poměrně výrazná (dosahující cca 75% oxidázové aktivity). (Atanasov et al. 2008). Nejpravděpodobnějším vysvětlením je přítomnost jiných NADPH-generujících enzymů v lumen endoplazmatického retikula; v souvislosti se mluví například o izocitrátdehydrogenáze (Margittai & Banhegyi 2008).

Klíovým experimentem by mohlo být stanovení vlivu postupně se měnícího poměru $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ na inhibiční potenciál 7-oxidovaných derivátů DHEA, nebo předpokládáme, že právě poměr $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ je jedním z hlavních faktorů, které tyto inhibiční reakce *in vivo* regulují.

Část výzkumu by se měla zaměřit také na to, jak jsou jednotlivé enzymy metabolismu glukokortikoidů z DHEA (11 β -HSD1 a 2, H6PDH, CYP7B1 aj.) distribuovány v rámci buňky (tj. v jednotlivých organelách) a v různých typech tkání. Rozdíly v zastoupení těchto enzymů by totiž mohly být základem pro tkáňově i místně specifickou regulaci glukokortikoidního působení.

Dále by bylo užitečné provést sérii *in vivo* pokusů se 7-OH-DHEA a 7-oxo-DHEA, protože právě tyto metabolity byly na základě *in vitro* studií a naměřených kinetických údajů vyhodnoceny jako nejsilnější potenciální antiglukokortikoidy a dosud nemáme žádná data, která by tento teoretický předpoklad podpořila. V případě neúspěchu by bylo vhodné pokusit se odhalit příčinu odlišného chování těchto steroidů *in vitro* a *in vivo*.

Konečně by mohlo být přínosné znovu provést modifikace vědeckých pokusů, v nichž byl zaznamenán antiglukokortikoidní efekt DHEA a u nichž dosud neznáme mechanismus a ověřit, zda tento efekt není spjat s některým z DHEA metabolitů.

7 Závěr

DHEA ovlivňuje celou řadu fyziologických procesů. Při hledání společného jmenovatele vědeckého efektu byla v devadesátých letech minulého století navržena hypotéza tzv. přirozeného antiglukokortikoidu, podle níž měl DHEA nějakým způsobem interferovat s působením glukokortikoidů. Od té doby se naše poznání posunulo kupedu a nyní víme, že minimálně některé efekty DHEA s glukokortikoidy nijak nesouvisí. Antiglukokortikoidní paradigma však rozhodně nebylo překonáno; dokonce se zdá, že mechanismy, jakými DHEA a jeho metabolity tlumí účinky těchto adrenálních hormonů, je nkolik a že se vzájemně nevykládají.

Pokud by se podařilo potvrdit antiglukokortikoidní charakter DHEA a objasnit jeho molekulární podstatu, získali bychom snadno dostupné farmakum pro léčbu různých onemocnění způsobených nadměrnou hladinou glukokortikoidů. Tato perspektiva je o to lákavější, že DHEA má pouze nepatrné vedlejší účinky.

Nělik tomu však opravdu dojde, je třeba provést ještě mnoho dalších studií a konečně sjednotit rozdílné představy o účincích DHEA na lidský organismus.

8 Seznam použité literatury

- Alexaki VI, Charalampopoulos I, Panayotopoulou M, Kampa M, Gravanis A, Castanas E: Dehydroepiandrosterone protects human keratinocytes against apoptosis through membrane binding sites. *Experimental Cell Research* 315: 2275-2283, 2009
- Apostolova G, Schweizer RAS, Balazs Z, Kostadinova RM, Odermatt A: Dehydroepiandrosterone inhibits the amplification of glucocorticoid action in adipose tissue. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 288: E957-E964, 2005
- Atanasov AG, Nashev LG, Gelman L, Legeza B, Sack R, Portmann R, Odermatt A: Direct protein-protein interaction of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase in the endoplasmic reticulum lumen *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1783: 1536-1543, 2008
- Balázs Z, Schweizer RA, Frey FJ, Rohner-Jeanrenaud F, Odermatt A: DHEA induces 11 β -HSD2 by acting on CCAAT/enhancer-binding proteins. *Journal of the American Society of Nephrology* 19: 92-101, 2008
- Balázs Z, Nashev LG, Chandsawangbhuwana C, Baker ME, Odermatt A: Hexose-6-phosphate dehydrogenase modulates the effect of inhibitors and alternative substrates of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1. *Molecular and Cellular Endocrinology* 301: 117-122, 2009
- Baulieu E-E, Robel P: Dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) as neuroactive neurosteroids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 4089-4091, 1998
- Beato M, Klug J: Steroid hormone receptors: an update. *Human Reproduction Update* 6: 225-236, 2000
- Berger J, Moller DE: The mechanism of action of PPARs. *Annual Review of Medicine* 53: 409-435, 2002
- Blum A, Maser E: Enzymology and molecular biology of glucocorticoid metabolism in humans. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 75: 173-216, 2003
- Cutler GB Jr, Glenn M, Bush M, Hodgen GD, Graham CE, Loriaux DL: Adrenarche: A Survey of Rodents, Domestic Animals, and Primates. *Endocrinology* 103: 2112-2118, 1978
- Dhatariya KK, Nair KS: Dehydroepiandrosterone: is there a role for replacement? *Mayo Clinic Proceedings* 78: 1257-73, 2003
- Draper N, Stewart PM: 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. *Journal of Endocrinology* 186: 251-71, 2005

- Dulos J, Verbraak E, Bagchus WM, Boots AM, Kaptein A: Severity of murine collagen-induced arthritis correlates with increased CYP7B activity: enhancement of dehydroepiandrosterone metabolism by interleukin-1beta. *Arthritis & Rheumatism* 50: 3346-3353, 2004
- Dulos J, Boots AH: DHEA metabolism in arthritis: a role for the p450 enzyme Cyp7b at the immune-endocrine crossroad. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1069: 401-413, 2006.
- Fitzpatrick JL, Ripp SL, Smith NB, Pierce WM, Prough RA: Metabolism of DHEA by Cytochromes P450 in Rat and Human Liver Microsomal Fractions. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 389: 278-287, 2001
- Gordon G, Mackow MC, Levy HR: On the mechanism of interaction of steroids with human glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 318: 25-29, 1995
- Gu S, Ripp SL, Prough RA, Geoghegan TE: Dehydroepiandrosterone affects the expression of multiple genes in rat liver including 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a cDNA array analysis. *Molecular Pharmacology* 63: 722-731, 2003
- Guyton AC, Hall JE: Textbook of Medical Physiology 6 11th ed. Philadelphia, Pennsylvania : Elsevier Saunders, 2006. ISBN 0-7216-0240-1
- Hennebert O, Chalbot S, Alran S, Morfin R: Dehydroepiandrosterone 7 α -hydroxylation in human tissues: Possible interference with type 1 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-mediated processes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 104: 326-333, 2007
- Hermana JP, Cullinan WE: Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends in Neurosciences* 20: 78-84, 1997
- Charalampopoulos I, Dermizaki E, Vardouli L, Tsatsanis C, Stournaras C, Margioris AN, Gravanis A: Dehydroepiandrosterone Sulfate and Allopregnanolone Directly Stimulate Catecholamine Production via Induction of Tyrosine Hydroxylase and Secretion by Affecting Actin Polymerization. *Endocrinology* 146: 3309-3318, 2005
- Chester-Jones I, Ingleton P M, Phillips J G: Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology. New York : Springer, 1987. ISBN-10: 9780306423147
- Chmielewski V, Drupt F, Morfin R: Dexamethasone-induced apoptosis of mouse thymocytes: prevention by native 7 α -hydroxysteroids. *Immunology and Cell Biology* 78: 238-246, 1999
- Kalimi M, Shafagoj Y, Loria R, Padgett D, Regelson W: Anti-glucocorticoid effects of dehydroepiandrosterone (DHEA). *Molecular and Cellular Biochemistry* 131: 99-104, 1994

- Labrie F: Intracrinology. *Molecular and Cellular Endocrinology* 78: C1136C118, 1991
- Labrie F, Bélanger A, Simard J, Luu-The V & Labrie C: DHEA and Peripheral Androgen and Estrogen Formation: Intracrinology. *Annals of the New York Academy of Sciences* 774: 16628, 1995
- Labrie F, Luu-The V, Bélanger A, Lin S-X, Simard J, Pelletier G, Labrie C: Is dehydroepiandrosterone a hormone? *Journal of Endocrinology* 187: 169-196, 2005
- Lafaye P, Chmielewski V, Nato F, Mazié JC, Morfin R: The 7 -hydroxysteroids produced in human tonsils enhance the immune response to tetanus toxoid and Bordetella pertussis antigens. *Biochimica et Biophysica Acta* 1472: 2226231, 1999
- Lapchak PA, Araujo DM: Preclinical development of neurosteroids as neuroprotective agents for the treatment of neurodegenerative diseases. *International Review of Neurobiology* 46: 379-397, 2001
- Liu D, Dillon JS: Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to G i2,3. *The Journal of Biological Chemistry* 277: 21379621388, 2002
- Liu D, Dillon JS: Dehydroepiandrosterone (DHEA): A Misunderstood Adrenal Hormone and Spine-Tingling Neurosteroid? *Endocrinology* 145: 1039-1041, 2004
- Liu D, Si H, Reynolds KA, Zhen W, Jia Z, Dillon JS: Dehydroepiandrosterone protects vascular endothelial cells against apoptosis through a Galphai protein-dependent activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and regulation of antiapoptotic Bcl-2 expression. *Endocrinology* 148: 3068-76, 2007
- Liu D, Iruthayanathan M, Homan LL, Wang Y, Yang L, Wang Y, Dillon JS: Dehydroepiandrosterone stimulates endothelial proliferation and angiogenesis through extracellular signal-regulated kinase 1/2-mediated mechanisms. *Endocrinology* 149: 889-898, 2008
- Margittai E, Banhegyi G: Isocitrate dehydrogenase: a NADPH-generating enzyme in the lumen of the endoplasmic reticulum. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 471: 1846190, 2008
- Matsuzaki Y, Yoshida S, Honda A, Miyazaki T, Tanaka N, Takagiwa A, Fujimoto Y, Miyazaki H: Simultaneous determination of dehydroepiandrosterone and its 7-oxygenated metabolites in human serum by high-resolution gas chromatography--mass spectrometry. *Steroids* 69: 817-824, 2004
- Morfin R, Courchay G: Pregnenolone and dehydroepiandrosterone as precursors of active 7-hydroxylated metabolites which increase the immune response in mice. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 50: 916100, 1994

- Morfin R: Involvement of steroids and cytochromes P450 species in the triggering of immune defense (Review). *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 80: 273-290, 2002
- Muller C, Cluzeaud F, Pinon GM, Rafestin-Oblin ME, Morfin R: Dehydroepiandrosterone and its 7-hydroxylated metabolites do not interfere with the transactivation and cellular trafficking of the glucocorticoid receptor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 92: 469-476, 2004
- Muller C, Pompon D, Urban P, Morfin R: Inter-conversion of 7 α - and 7 β -hydroxy-dehydroepiandrosterone by the human 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 99: 215-222, 2005
- Muller C, Hennebert O, Morfin R: The native anti-glucocorticoid paradigm. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 100: 95-105, 2006
- Nakamura S, Yoshimura M, Nakayama M, Ito T, Mizuno Y, Harada E, Sakamoto T, Saito Y, Nakao K, Yasue H, Ogawa H: Possible Association of Heart Failure Status With Synthetic Balance Between Aldosterone and Dehydroepiandrosterone in Human Heart. *Circulation* 110: 1787-1793, 2004
- Nashev LG, Chandsawangbhuwana C, Balazs Z, Atanasov AG, Dick B, Frey FJ, Baker ME, Odermatt A: Hexose-6-phosphate dehydrogenase modulates 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1-dependent metabolism of 7-keto- and 7 β -hydroxy-neurosteroids. *PLoS One* 27;2:e561, 2007
- Nomura S, Fujitaka M, Sakura N, Ueda K: Circadian rhythms in plasma cortisone and cortisol and the cortisone/cortisol ratio. *Clinica Chimica Acta* 266: 83-91, 1997
- Oberbeck R, Kobbe P: Dehydroepiandrosterone (DHEA): A Steroid with Multiple Effects. Is there Any Possible Option in the Treatment of Critical illness? *Current Medicinal Chemistry* 17: 1039-1047, 2010
- Pélissier MA, Trap C, Malewiak MI, Morfin R: Antioxidant effects of dehydroepiandrosterone and 7 α -hydroxy-dehydroepiandrosterone in the rat colon, intestine and liver. *Steroids* 69: 137-144, 2004
- Pélissier MA, Muller C, Hill M, Morfin R: Protection against dextran sodium sulfate-induced colitis by dehydroepiandrosterone and 7 α -hydroxy-dehydroepiandrosterone in the rat. *Steroids* 71:240-248, 2006
- Rego JLD, Seong JY, Burel D, Leprince J, Luu-The V, Tsutsui K, Tonon M-Ch, Pelletier G, Vaudry H: Neurosteroid biosynthesis: Enzymatic pathways and neuroendocrine regulation by neurotransmitters and neuropeptides. *Frontiers in Neuroendocrinology* 30: 259-301, 2009

- Robinson B, Michael KK, Ripp SL, Winters SJ, and Prough RA: Glucocorticoids inhibit interconversion of 7- hydroxy- and 7- oxo metabolites of dehydroepiandrosterone (DHEA): A role for 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases? *Archives of Biochemistry and Biophysics* 412: 251-258, 2003
- Robinson B, Prough RA: Interactions between dehydroepiandrosterone and glucocorticoid metabolism in pig kidney: Nuclear and microsomal 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 442: 336-40, 2005
- Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K: Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacology & Therapeutics* 96: 23-43, 2002
- Sterzl I, Hampl R, Sterzl J, Votruba J, Stárka L: 7 β -OH-DHEA counteracts dexamethasone induced suppression of primary immune response in murine spleenocytes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 71: 133-137, 1999
- Sulcova J, Hill M, Masek Z, Ceska R, Novacek A, Hampl R, Starka L: Effects of transdermal application of 7-oxo-DHEA on the levels of steroid hormones, gonadotropins and lipids in healthy men. *Physiological Research* 50: 961-8, 2001
- Suzuki T, Suzuki N, Daynes RA, Engleman EG: Dehydroepiandrosterone enhances IL2 production and cytotoxic effector function of human T cells. *Clinical Immunology and Immunopathology* 61: 202-211, 1991
- Šulcová J, Hill M, Hampl R, Stárka L: Age and sex related differences in serum levels of unconjugated dehydroepiandrosterone and its sulphate in normal subjects. *Journal of Endocrinology* 154: 57-62, 1997
- Tsuji K, Furutama D, Tagami M, Ohsawa N: Specific binding and effects of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) on skeletal muscle cells: possible implication for DHEA-S replacement therapy in patients with myotonic dystrophy. *Life Sciences* 65: 17-26, 1999
- Whorwood CB, Donovan SJ, Wood PJ, Phillips DI: Regulation of glucocorticoid receptor and isoforms and type I 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase expression in human skeletal muscle cells: a key role in the pathogenesis of insulin resistance? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 86: 2296-62308, 2001

Elektronické zdroje:

Nussey SS, Whitehead SA: Endocrinology : An Integrated Approach. Oxford : BIOS Scientific Publishers Ltd, 2001. ISBN 1 85996 252 1

Přístupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22>

Wikipedia

<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Steroidogenesis.svg>

Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology

P ístupné z: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/CYP7B1ID40255ch8q21.html>